

تأثیر فرایند تکمیلی اکستروژن بر کاهش اسید فیتیک سبوس گندم هیدروترمال و تخمیری

سحر خلجان^۱، بایک غیاثی طرزی^۲

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- نویسنده مسئول: دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. پست الکترونیکی: b-ghiasi@srbiau.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۴/۴

تاریخ دریافت: ۹۹/۱۲/۱۵

چکیده

سابقه و هدف: با توجه به اهمیت استفاده از فرآورده‌های جانبی صنعت غذا، از سبوس گندم به دلیل این که منبعی سرشار از فیبر، مواد معدنی و ویتامین می‌باشد، می‌توان به عنوان یک محصول جانبی با ارزش، در این صنعت استفاده کرد. با این حال بر خلاف ارزش تغذیه‌ای بالای سبوس گندم، وجود اسید فیتیک به دلیل جلوگیری از دسترسی زیستی بسیاری از املاح معدنی یک عامل نگرانی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در ادامه پژوهش‌هایی که با هدف کاهش میزان اسید فیتیک انجام شده است، تأثیر فرایند تکمیلی اکستروژن بر کاهش اسید فیتیک سبوس گندم تیمار شده به روش‌های هیدروترمال و تخمیری مورد بررسی قرار گرفت. جهت تهیه نمونه‌های اکستروژد شده از دستگاه اکسترودر دو مارپیچی با چرخش غیر هم جهت و سرعت چرخش مارپیچ (۳۰۰ دور بر دقیقه)، سرعت ورود خوراک ۲۰ کیلوگرم بر ساعت، رطوبت ۲۰٪ و دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد استفاده گردید.

یافته‌ها: فرایند اکستروژن سبب کاهش میزان اسید فیتیک در سبوس خام، تخمیری و هیدروترمال، در سطح معنی‌دار گردید ($p < 0.05$). به ترتیب بیشترین کاهش میزان اسیدفیتیک پس از اکستروژن، (۸۴/۸۴٪) در سبوس تخمیر شده و (۷۸/۳٪) سبوس هیدروترمال و (۴۶٪) سبوس خام دیده شد. همچنین، فرایند اکستروژن سبب کاهش رطوبت، pH و روشنی (*L)، و افزایش معنی‌دار میزان خاکستر، فیبر خام و میزان قرمزی (a*), در سه نمونه سبوس خام، تخمیری و هیدروترمال گردید ($p < 0.05$).

نتیجه گیری: نتایج نشان داد که سبوس گندم تخمیری و هیدروترمال که تحت فرایند تکمیلی اکستروژن قرار گرفتند، به عنوان منبع غنی از فیبر رژیمی، مقدار کمتر اسید فیتیک و زیست دسترسی‌پذیری بیشتر به مواد معدنی و ماندگاری بیشتر، دارای پتانسیل بالقوه مناسبی برای استفاده در فرمولاسیون‌های غذایی می‌باشد.

وازگان کلیدی: سبوس گندم، سبوس فراوری شده، اکستروژن، اسید فیتیک، زیست دسترسی (Bio-availability)

• مقدمه

مولکولی اسید فیتیک، $C_6H_{18}O_{24}P_6$ است (۸). این ترکیب شامل ۶ گروه فسفات و ۶ مولکول کربن با وزن مولکولی پایین است و به عنوان منبع انرژی، املاح و فسفر در رشد گیاه مهم است (۳). اسید فیتیک موجود در سبوس غلات به علت خاصیت چلالات کنندگی به املاح وصل شده و قابلیت دسترسی بدن به آهن، روی، کلسیم و منیزیم را کاهش می‌دهد (۹، ۱۰). اسید فیتیک تنها در شرایط pH بالا به طور کامل پروتونه می‌شود (> ۱۲)، بنابراین، شکل آنیونی آن، به صورت غالب در غذاهای گیاهی دیده می‌شود (۴). سبوس گندم به دلیل مقدار بالای فیبر رژیمی و اجزای بیولوژیکی برای سلامت انسان مفید می‌باشد (۱۱). سبوس سرشار از

فسفر غلات از نظر فیزیولوژیکی غیر قابل دسترس است، زیرا بخش عمده‌ای از آن به صورت اینوزیتول هگزا فسفات یا فیتات (Phytate) وجود دارد (۱). ۸۷ درصد فسفر فیتات و ۵۰ تا ۸۰ درصد املاح گندم در لایه آبورون قرار دارند (۲). فسفر موجود در اسیدفیتیک بیش از ۸۰ درصد کل فسفر گندم را تشکیل می‌دهد (۳). اسید فیتیک (Miyoinozitoul (InsP₆) او۲۰۴۰۵۰۶ هگزا دی هیدروژن فسفات، myo-Inositol Hexakis(dihydrogen phosphate)) اصلی ذخیره فسفر، اینوزیتول و کاتیون‌ها در گیاهان شامل غلات، آجیل‌ها، حبوبات و سبزیجات می‌باشد (۴). در غلات لایه آبورون محل اصلی ذخیره فیتات است (۵-۷). فرمول

ظهور ارائه شده است (۲۲). این تحقیق با هدف بررسی تأثیر ترکیب روش اکستروژن به همراه سایر روش‌های معمول فرآوری با تمرکز بر کاهش میزان اسید فیتیک موجود در سبوس گندم و مقایسه خصوصیات فیزیکوشیمیایی نمونه‌های سبوس خام، تخمیری و هیدرورترمال اکستروژن شده انجام شد.

• مواد و روش‌ها

سبوس گندم از کارخانه آرد ورامین، جهت تهیه پیش تیمارهای هیدرورترمال و تخمیر و نهایتاً فراوری با اکستروژن، تهیه شد.

مخمر خشک ساخت شرکت رضوی، استات سدیم و اسید استیک و تمامی مواد شیمیایی ساخت شرکت مرک، تهیه و استفاده شد.

آماده سازی سبوس فرآوری شده به روش تخمیر: مقدار ۱۰۰ کیلوگرم سبوس با ۱۲۵۰ گرم مخمر و $\frac{3}{5}$ برابر آب محلول و به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس سبوس‌ها شسته و خشک شدند (۲۳).

آماده سازی سبوس فرآوری شده به روش هیدرورترمال: مقدار سبوس مورد نیاز با حدود دو برابر حجم آن بافر استات (pH=۴/۸) محلوت شد و یک ساعت در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس بافر استات جدا شد و سبوس‌ها با محلول بافر استات تازه محلوت و به مدت ۲۳ ساعت در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس سبوس‌ها شسته و خشک شدند. برای تهیه یک لیتر بافر استات با pH=۴/۸، ۴۰۰ سی سی اسید استیک $\frac{1}{2}$ مولار و ۶۰۰ سی سی استات سدیم $\frac{1}{2}$ مولار با هم محلوت می‌شود (۲۴-۲۶).

فرایند تکمیلی اکستروژن: بر اساس چندین پژوهشی که از فرایند اکستروژن به جهت رسیدن به بهترین نتیجه برای کاهش اسید فیتیک انجام شده بود، به منظور تهیه نمونه‌های اکستروژن شده با شرایط دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۲۰٪، دور مارپیچ ۳۰۰ دور بر دقیقه، میزان سرعت خوارک دهی ۲۰ کیلوگرم بر ساعت، دستگاه اکسترودر دو مارپیچ (مدل DS56، شرکت Saixin machinery) با چرخش غیر هم جهت، استفاده گردید (۲۲). سپس نمونه‌ها خشک و تا زمان انجام آزمون‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، نگهداری شدند.

آزمون‌ها: اندازه‌گیری pH تمامی نمونه‌ها طبق- Method 02- AACC 52، رطوبت نمونه‌ها طبق-

سلولز، همی سلولز و املاح است (۱۲). نمک‌های اسید فیتیک به طور کلی "فیتات" نامیده می‌شوند (۱۳، ۱۴). به طور معمول حضور اسید فیتیک، دلالت بر مسائل حاد مسمومیتی ندارد بلکه مانع عملکرد مواد مغذی می‌شود (۶). تعدادی از خصوصیات مفید فیتات برای ارتقا سلامتی و اثر آنتی‌اسیدانی آن گزارش شده است (۴). با این حال، فیتات با شش گروه فسفات عامل چلاته کننده قوی در طبیعت می‌باشد (۱۵).

تحت شرایط فیزیولوژیکی، اسید فیتیک دارای پتانسیل بالایی برای تشکیل کمپلکس با کاتیون‌های با بار مثبت به ویژه آهن، روی، منیزیم و کلسیم می‌باشد. این کمپلکس‌ها تحت شرایط اسیدی معده محلول هستند و در pH خنثی در روده رسوب می‌کند (۱۶). یون فیتات با چند عنصر معدنی مانند کلسیم، روی، کبالت، مس، منیزیم و آهن می‌تواند کمپلکس تشکیل دهد و کمپلکس فیتات - ماده معدنی و فیتات - پروتئین - ماده معدنی را تولید کند (۱۷). چون فیتات‌ها به طور عادی یونی هستند، لذا مستقیماً با گروه‌های باردار پروتئین‌ها واکنش داده یا به طور غیرمستقیم با گروه‌های باردار منفی پروتئین‌ها با واسطه یک یون معدنی مثبت مانند کلسیم واکنش می‌دهند. همچنین ممکن است تشکیل این کمپلکس‌ها اثر بدی بر هضم پروتئین و زیست دستری داشته و موجب تغییر ساختار پروتئین و در نتیجه کاهش حلالیت و فعالیت آنزیمی آنها شود (۱۸، ۱۹). در pH بین ۶ تا ۷ در حدود ۷۵٪ از اسید فیتیک نامحلول است ولی در pH های ۵ و ۴ به ترتیب فقط ۱۸٪ و ۵٪ از اسید فیتیک نامحلول است (۱۹). فرایند آماده سازی و فراوری در جهت تهیه فراورده‌ایی با ارزش تغذیه‌ای بالاتر، طعم بهتر و ماندگاری بیشتر، اجسام می‌شود (۱۶). در طول فرآوری غذاهای حاوی فیتات، اینوزیتول فسفات‌ها، با تعداد کمتر گروه‌های فسفات متصل به حلقه اینوزیتول تشکیل می‌شود (۲۰، ۲۱). برداشت گروه فسفات از حلقه اینوزیتول، قدرت اتصال فیتات را کاهش و زیست فراهمی عناصر معدنی ضروری را افزایش می‌دهد (۲۱). تاکنون روش‌های فراوری متفاوتی جهت کاهش اسید فیتیک سبوس گندم از جمله هیدراتاسیون سرد، هیدراتاسیون گرم، هیدرورترمال، تخمیر، آنزیمی، پخت و اکستروژن انجام شده است. مطالعات مختلف تأثیر اکستروژن بر کاهش سطح فاکتورهای ضد تغذیه‌ای از جمله فیتات را در مواد غذایی گوناگون، نشان داده‌اند. اگر چه ترکیب روش‌های مختلف فرایند می‌تواند کنترل و کاهش بهتر یا حذف ترکیبات ضد مغذی، در مقایسه با یک روش را بدهد، اطلاعات محدودی درباره ترکیب اکستروژن با سایر روش‌های معمول یا در حال

استفاده شد. فاز متحرک شامل ۳۰ میلی لیتر استونیتریل و ۷۰ میلی لیتر محلول ۱٪ مولار نیتریک اسید، و C18-ODS استانداردها و نمونه‌ها بر روی ستون Octyldecylsilane (Octyldecylsilane) جداسازی شدند. پیک محلول آهن-تیوسیانات، توسط آشکارساز PDA شناسایی و غلظت اسید فیتیک با استفاده از منحنی کالیبراسیون محاسبه گردید.

تجزیه و تحلیل آماری: به منظور آنالیز آماری داده‌ها و بررسی نتایج به دست آمده، از طرح کاملاً تصادفی استفاده گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS 9.4 انجام و تأثیر تیمارها با استفاده از آنالیز واریانس، بررسی شد و در صورت معنی دار بودن، مقایسه بین نتایج بدست آمده بوسیله آزمون چند دامنه‌ای دانکن بررسی و نمودارها با استفاده از Excel رسم گردید. آزمون‌ها در سه تکرار انجام شد.

• یافته‌ها

ویژگی‌های سبوس گندم مورد استفاده جهت فراوری پیش تیمار تخمیر و هیدروترمال و اکستروژن در جدول ۱، کدهای مربوط به تیمارها در جدول ۲ و نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها در جدول ۳ آورده شده است.

(AACC Method 08-01) و خاکستر نمونه‌ها طبق (AACC Method 32-10.01) در سه تکرار انجام شد (۲۷).

آزمون فیبر خام: اندازه‌گیری فیبر خام با روش دستگاهی و EXR4/EXR6 با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری فیبر خام (Hydrolysis Device) در سه تکرار انجام شد. اساس کار بر مبنای جزء باقیمانده از نمونه مورد آزمایش پس از هضم با محلول‌های استاندارد اسید سولفوریک و هیدروکسید سدیم تحت شرایط کنترل شده و نهایتاً تبدیل آن به خاکستر به روش کوره طبق (AACC Method 32-10.01) می‌باشد (۲۷).

آزمون رنگ سنجی: به منظور ارزیابی رنگ نمونه‌های پیش تیمار و اکستروژن شده از دستگاه هانتر لب استفاده شد، در این دستگاه، رنگ بر مبنای ۳ شاخص L^* , a^* و b^* ارزیابی می‌شود (۲۸).

آزمون اندازه‌گیری میزان اسید فیتیک: اندازه‌گیری اسید فیتیک، بر اساس جانشینی فلز-اسید فیتیک از فرم کمپلکس آهن (III) - تیوسیانات و جدا کردن و نشان دادن کاهش در میزان غلظت کمپلکس رنگی با روش (۲۹) انجام شد. جهت تعیین مقدار اسید فیتیک نمونه‌ها و آماده‌سازی و تزریق به ستون HPLC (Waters 1525, Binary HPLC) از دستگاه (Raw.b)

جدول ۱. ویژگی‌های سبوس گندم فراوری نشده

اسید فیتیک ppm	b^*	a^*	L^*	فیبر خام٪	pH	خاکستر٪	رطوبت٪	سبوس گندم (Raw.b)
۱۹۱/۶۱±۲/۸۶	۱۴/۴۸±۰/۰۰۳	-۶/۸۴±۰/۰۰۶	۶۶/۳۴±۰/۰۰۳	۷/۴۲±۰/۰۸۳	۶/۲۲±۰/۰۱۵	۳/۸۱±۰/۰۲۴	۱۰/۵±۰/۰۵۷	

جدول ۲. کدهای مربوط به تیمارها

تیمار	کد	تیمار	کد	تیمار	کد
سبوس خام	Raw.b	پیش تیمار هیدروترمال	H.r.b	اکستروژن بر سبوس تخمیر شده	Ex.f.b
پیش تیمار تخمیر	F.r.b	اکستروژن بر سبوس خام	Ex.r.b	اکستروژن بر سبوس هیدروترمال	Ex.h.b

جدول ۳. نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها

متغیر	درجه آزادی	Df	رطوبت	خاکستر	pH	فیبر	L^*	a^*	b^*	اسید فیتیک
تیمار	۵		۲۶/۳۵۴**	۶/۶۰**	۰/۲۲**	۲۸/۳۵۸**	۱۸۲/۵۳۳**	۸۲/۰/۷۳**	۲۲/۵۳۷**	۸۷۱۱/۷**
خطا	۱۲		۰/۰۲	۰/۱۴	۰/۰۰۰۳	۰/۲۶۴	۰/۰۰۰۷	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۰۵	۸/۰۵۲
CV ضریب تغییرات	۲/۳۱۶	۱۰/۴۵	۰/۳۳	۱۰/۴۵	۰/۳۳	۴/۵۲۴	۰/۰۳۱	۰/۰۲۳	۰/۰۴۹	۲/۸۹۲

** تیمارها در سطح احتمال ۹۹٪ بر متغیرهای والسه تأثیر داشته است.

سبوس طی فراوری هیدرولترمال و تخمیر افزایش یافت (جدول ۴).

ارزیابی متغیرهای مورد بررسی بر شاخصهای رنگ (L*, a*, b*) مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد، بیشترین میزان رطوبت مربوط به سبوس هیدرولترمال اکستروژن شده و پس از آن مربوط به تخمیر اکستروژن شده، مشاهده شد. با کاهش رطوبت، مدت زمان نگهداری محصول نیز، افزایش می‌یابد.

علاءو بر این، فرایند اکستروژن بر نمونه‌های سبوس تخمیر شده، سبوس هیدرولترمال و سبوس خام، باعث افزایش قرمزی نمونه‌ها شد. که بیشترین میزان قرمزی، مربوط به سبوس تخمیری اکستروژن شده می‌باشد، پس از آن فرایند اکستروژن بر سبوس هیدرولترمال باعث افزایش قرمزی (a*) شده است.

کمترین میزان قرمزی، مربوط به سبوس خام می‌باشد.

فرایند اکستروژن سبب افزایش زردی (b*) در نمونه‌های سبوس هیدرولترمال و سبوس تخمیری شده است. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین میزان زردی، مربوط به سبوس هیدرولترمال اکستروژن شده می‌باشد و کمترین میزان زردی، مربوط به سبوس خام اکستروژن شده می‌باشد.

ارزیابی متغیرهای مورد بررسی بر میزان درصد رطوبت:
مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد، بیشترین میزان رطوبت مربوط به سبوس خام می‌باشد. کمترین میزان رطوبت مربوط به سبوس هیدرولترمال اکستروژن شده و پس از آن مربوط به تخمیر اکستروژن شده، مشاهده شد. با کاهش رطوبت، مدت زمان نگهداری محصول نیز، افزایش می‌یابد.

ارزیابی متغیرهای مورد بررسی بر میزان درصد خاکستر:
مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد، فرایند اکستروژن سبب افزایش میزان خاکستر در سبوس خام، تخمیری و هیدرولترمال، شده است. پیش تیمار هیدرولترمال و تخمیر، سبب کاهش خاکستر نسبت به سبوس خام گردید.

ارزیابی متغیرهای مورد بررسی بر میزان pH: مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد، بیشترین میزان pH مربوط به سبوس خام و کمترین میزان pH مربوط به سبوس تخمیری اکستروژن شده و پس از آن سبوس هیدرولترمال اکستروژن شده بود.

ارزیابی متغیرهای مورد بررسی بر میزان درصد فیبر خام: مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد، فرایند اکستروژن سبب افزایش فیبر خام در سبوس خام، سبوس تخمیر شده و سبوس هیدرولترمال شد. بیش ترین میزان فیبر خام مربوط به سبوس هیدرولترمال اکستروژن شده و پس از آن مربوط به سبوس تخمیری اکستروژن شده می‌باشد. میزان فیبر خام

جدول ۴. تأثیر تیمارها بر فیبر خام

نمونه	Raw.b	F.r.b	H.r.b	Ex.r.b	Ex.f.b	Ex.h.b
فیبر خام٪	۷/۴۲±۰/۰۸ ^e	۸/۱۰±۰/۰۲ ^e	۱۲/۳۳±۰/۲۷ ^c	۱۱/۳۳±۰/۶۴ ^d	۱۴±۰/۰۰ ^b	۱۵±۰/۰۰ ^a

حروف لاتین متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۱ در صد بین تیمارها می‌باشد.

جدول ۵. تأثیر تیمارها بر شاخصهای رنگ

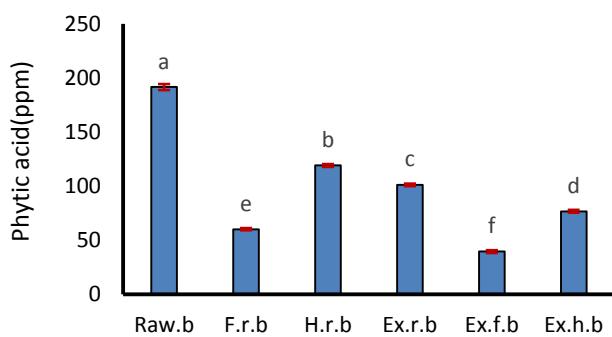
b*	a*	L*	نمونه ها
۱۴/۴۸±۰/۰۰ ^e	-۶/۸۴±۰/۰۰ ^f	۶۶/۳۴±۰/۰۰ ^a	سبوس خام Raw.b
۱۴/۷۴±۰/۰۰ ^d	۵/۲۲±۰/۰۰ ^c	۵۴/۱۶±۰/۰۲ ^c	سبوس تخمیری F.r.b
۱۵/۲۸±۰/۰۰ ^b	۵/۱±۰/۰۰ ^d	۵۵/۴۱±۰/۰۰ ^b	سبوس هیدرولترمال H.r.b
۹/۰ ۱±۰/۰۰ ^f	۴/۶۵±۰/۰۰ ^e	۴۲/۹۲±۰/۰۰ ^f	اکستروژن سبوس خام Ex.r.b
۱۵/۰۶±۰/۰۰ ^c	۷/۰۸±۰/۰۰ ^a	۴۹/۰ ۱±۰/۰۰ ^e	اکستروژن سبوس تخمیر شده Ex.f.b
۱۷/۱ ۰±۰/۰۰ ^a	۶/۹۵±۰/۰۰ ^b	۵۱/۶۴±۰/۰۰ ^d	اکستروژن سبوس هیدرولترمال Ex.h.b

حروف لاتین متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۱ در صد بین تیمارها می‌باشد.

دسترسی مواد معدنی افزایش می‌یابد (۲۱). Wang و همکاران (۲۰۰۸)، به نتایج مشابهی رسیدند (۳۲). همچنین ممکن است علت افزایش خاکستر پس از اکستروژن، مربوط به آلودگی اکسترودرها با مواد معدنی موجود در آب مورد استفاده جهت اکستروژن نمونه‌ها باشد. Sharma و همکاران (۲۰۰۴) گزارش نمودند، با اکستروژن سبوس برنج میزان خاکستر افزایش یافت و علت افزایش در میزان خاکستر بعد از اکستروژن را احتمال آلودگی اکسترودرها با مواد معدنی موجود در آب مورد استفاده در فرایند اکستروژن مرتبط سبوس بیان کردند (۳۳). Thompson و همکاران (۱۹۹۳) سایر فاکتورهای تأثیرگذار بر دسترسی مواد معدنی در حضور اسید فیتیک، شامل روش فرآوری مواد غذایی، حضور سایر موادی که تشکیل پیوند با مواد معدنی می‌دهند مانند فیبر رژیمی، اگزالیک اسید و تانن‌ها که ممکن است برای پیوند با مواد معدنی با اسید فیتیک رقابت کنند را گزارش نمودند (۱۸). در نتیجه فرآیند اکستروژن، کمپلکس‌های نامحلول مواد معدنی با فیبرهای رژیمی، فیتات، پروتئین‌ها و پلی فنل‌ها و .. شکسته شده و قابلیت هضم و زیست دسترسی مواد معدنی افزایش می‌یابد (۲۲). Kaur و همکاران (۲۰۱۵) گزارش نمودند، با اکستروژن سبوس غلات، کاهش میزان اسید فیتیک، پلی فنل‌ها، اگزالات، مهار کننده تریپسین، مشاهده شد. پخت اکستروژن با در نظر گرفتن سرعت چرخش مارپیچ (۱۸۰ دور بر دقیقه)، دمای اکستروژن (۱۲۰ درجه سانتی‌گراد)، محتوای رطوبت خوراک (۲۰ درصد) در کاهش مواد ضد تغذیه‌ای مؤثر بود (۳۴). علت کاهش میزان خاکستر در فرآوری تخمیر و هیدرولترمال، خارج و پخش شدن املاح سبوس در محیط آبی و بافری و در نتیجه کاهش نسبت خاکستر در نمونه سبوس، بیان شده است (۳۵، ۳۶).

pH: در نتیجه پیش تیمار تخمیر و هیدرولترمال، با فراهم کردن شرایط فرآیند به منظور بیشترین فعالیت آنزیم فیتاز برای کاهش مقدار اسید فیتیک (۲۳، ۲۴)، کاهش pH در نمونه‌ها مشاهده شد. با انجام اکستروژن سبوس و کاهش pH مشاهده شد که، اسید فیتیک در pH های پایین‌تر حلایت بیشتری دارد. زیرا بیشترین کاهش میزان اسید فیتیک مربوط به سبوس تخمیری اکسترود شده و سپس سبوس هیدرولترمال اکسترود شده می‌باشد. ممکن است کاهش pH، پس از اکستروژن به دلیل واکنش میلارد هم باشد. با اکستروژن سبوس، محصول به مدت طولانی تری قابلیت ماندگاری دارد (۳۰).

ارزیابی متغیرهای مورد بررسی بر میزان اسید فیتیک: مقایسه میانگین داده‌ها (نمودار ۱) نشان داد، فرایند اکستروژن سبب کاهش میزان اسید فیتیک در سبوس خام، سبوس تخمیری و سبوس هیدرولترمال شده است. بیشترین کاهش به ترتیب در نمونه سبوس تخمیر شده سپس در نمونه سبوس هیدرولترمال و در نهایت سبوس خام، دیده شد (جدول ۶).



نمودار ۱. مقایسه میانگین تأثیر تیمارها بر میزان اسید فیتیک

جدول ۶. درصد کاهش اسید فیتیک در تیمارهای مختلف

نمونه‌ها	کاهش اسید فیتیک (%)
سبوس خام اکسترود شده (Ex.r.b)	%۴۶
سبوس تخمیر شده (F.r.b)	%۸۱
سبوس تخمیری اکسترود شده (Ex.f.b)	%۸۴/۸۴
سبوس هیدرولترمال (H.r.b)	%۳۵/۴۹
سبوس هیدرولترمال اکسترود شده (Ex.h.b)	%۷۸/۳

* درصد کاهش اسید فیتیک بر اساس مقدار اولیه آن در نمونه سبوس خام (Raw.b) است.

• بحث

رطوبت: رطوبت تمام نمونه‌های خشک شده از سبوس شاهد کمتر بود. با اکستروژن نمونه‌های سبوس، احتمالاً افزایش فشار محافظه خروجی و خشک کردن نمونه‌ها پس از فرآیند، سبب کاهش مقدار رطوبت نمونه‌ها شده است. Sharma و همکاران (۲۰۱۴) افزایش مدت زمان نگهداری با فرآیند اکستروژن را گزارش نمودند (۳۰). Wang و همکاران (۱۹۹۳) در پژوهشی با اکستروژن سبوس خام گندم نتیجه مشابهی بدست آوردند (۳۱).

خاکستر: علت افزایش خاکستر پس از اکستروژن ممکن است بدلیل کاهش مواد ضد تغذیه‌ای در طی فرآوری باشد و در طی اکستروژن فرم‌های فیتات با فسفات کمتر که دارای کمترین ظرفیت اتصال با مواد معدنی می‌باشند، تشکیل و زیست

دما و رطوبت مشابه این پژوهش، مشاهده شد و رنگ بدست آمده توسط محصولات اکستروزد شده، بدليل کاراملیزه شدن یا واکنش میلارد بیان شد. لیزین و سایر اسیدهای آمینه موجود در مواد اولیه ممکن است با قندهای احیا کننده، تحت شرایط فراوری واکنش دهند، که منجر به تیره شدن محصولات اکستروزد شده می‌شوند. همچنین کم ترین افزایش در میزان قرمزی (a*) نمونه‌ها، در شرایط دما و رطوبت مشابه این پژوهش، مشاهده شد و دلیل آن احتمال کاراملیزه شدن یا واکنش میلارد بیان شد (۳۴). Wu و همکاران (۲۰۱۸) گزارش نمودند، با فرایند اکستروژن سبوس خام گندم، میزان قرمزی (a*) سبوس خام بعد از اکستروژن افزایش یافت (۴۲). همچنین فرایند اکستروژن سبب کاهش زردی در نمونه سبوس خام گردید. Kaur و همکاران (۲۰۱۵)، Wu و همکاران (۲۰۱۸) گزارش نمودند، با بررسی فرایند اکستروژن بر سبوس گندم خام، میزان زردی (b*) نمونه بعد از اکستروژن کاهش یافت (۳۴، ۴۲). علت افزایش زردی (b*) نمونه‌های هیدروترمال و تخمیری بعد از اکستروژن را می‌توان به تشکیل رنگدانه‌های ملانوئیدینی بر اثر واکنش میلارد نسبت داد (۴۳).

اسید فیتیک: به طور کلی مقدار رطوبت، دما، سرعت خوراکدهی، فاکتورهای تأثیرگذار مهمی بر کاهش اسید فیتیک و سایر فاکتورهای ضد تغذیه‌ای در فراوری با اکستروژن می‌باشدند (۴۴). Kaur و همکاران (۲۰۱۵) و Nikmaram و همکاران (۲۰۱۷)، Morales و همکاران (۲۰۱۵) گزارش نمودند، فرایند اکستروژن با شرایط رطوبت حدود ۲۰٪، دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد، بیشترین تأثیر را بر کاهش اسید فیتیک موجود در سبوس گندم داشت (۴۵). Kaur و همکاران (۲۰۱۵) تأثیر فرایند اکستروژن بر کاهش فاکتورهای ضد تغذیه‌ای در سبوس‌های مختلف را گزارش نمودند، که بیشترین کاهش فیتیک (۶۴/۴۰٪) مربوط به سبوس گندم بود (۳۴). در این پژوهش نیز کاهش ۴۶ درصدی میزان اسید فیتیک بعد از اکستروژن سبوس خام مشاهده شد. Sharma و همکاران (۲۰۰۴)، با انجام اکستروژن سبوس برنج، کاهش میزان اسید فیتیک را گزارش نمودند (۳۳). اسید فیتیک و سایر فاکتورهای ضد تغذیه‌ای به اثر متقابل و دخالت داشتن در تشکیل کمپلکس با پروتئین‌ها شناخته شده‌اند (۳۹). حتی اگر فیتیک بر جلوگیری از جذب مواد معدنی موثر باشد، اجزای دیگر مانند فسفات غیر آلی، پلی فنل‌ها و فیبرهای رژیمی غیر قابل هضم نیز جذب مواد معدنی و عناصر کمیاب را کاهش میدهد. قابلیت هضم و

فیبر خام: فیبر خام به طور متوسط از ۲۰٪ همی سلولز، ۵۰٪ لیگنین و ۵۰-۸۰٪ سلولز تشکیل شده است (۳۷). در طی فرایند اکستروژن فرم‌های اینوزیتول فسفات، با گروه‌های فسفات کمتر شکل می‌گیرد و فیبرهای رژیمی و پروتئین‌ها و فاکتورهای ضد تغذیه‌ای که با گروه‌های فسفات تشکیل کمپلکس نامحلول داده‌اند نیز، آزاد می‌شوند (۳۸، ۳۹). کیفیت فیبر رژیمی به عنوان یک فاکتور تغذیه‌ای است، که منحصرًا وابسته به محتوای فیتیات آن می‌باشد (۴۰). علاوه بر این ممکن است علت افزایش در نمونه‌های تخمیری و هیدروترمال اکستروزد شده، حذف آندوسپرم در طی فرایند باشد. Andersson و همکاران (۲۰۱۷) در پژوهشی گزارش نمودند، اکستروژن سبوس گندم و سبوس چاودار سبب افزایش قابلیت استخراج فیبر رژیمی شد. شرایط مطلوب اکستروژن برای افزایش قابلیت استخراج فیبر رژیمی، رطوبت ۲۴٪ سرعت مارپیچ ۳۰۰ دور در دقیقه و دمای ۱۳۰ درجه سانتی‌گراد بود. که در نتیجه آن اکستروژن را فرایندی مناسب برای افزایش استفاده از سبوس در بسیاری از محصولات غذایی مختلف بیان کردند (۱۱). Sharma و همکاران (۲۰۰۴) گزارش نمودند، با اکستروژن سبوس برنج میزان فیبر خام افزایش یافت (۳۳). Jayarajah و همکاران (۱۹۹۷) در پژوهشی افزایش فیبر خام را به علت جدا شدن آندوسپرم گندم چسبیده به سبوس در طی فرایند هیدروترمال بر اثر شستشو در محیط آبی و در نتیجه افزایش نسبت فیبر در نمونه را گزارش نمودند (۲۶). Hefnawy و همکاران (۲۰۱۱)، افزایش فیبر خام پس از خیساندن و پخت، را به علت تغییرات شیمیایی احتمالی در کمپلکس‌های فیبر-پروتئین، گزارش نمودند (۴۱).

رنگ نمونه‌ها: طبق نتایج بدست آمده، میزان روشنی سبوس خام اکستروزد شده از همه کمتر بود، که احتمالاً به دلیل بالاتر بودن pH نمونه از محدوده ۶ می‌باشد. علت اینکه اکستروژن بر میزان روشنی سبوس هیدروترمال و تخمیری، تأثیر کمتری داشته است، پایین تر بودن pH از ۶ می‌باشد. به طور کلی با افزایش pH تجمع رنگیزه بیشتر می‌شود بنابراین احتمالاً با کاهش pH، اثر دمای اکستروزد را نیز باید مؤثر دانست. تغییر رنگ در حین فراوری را بدليل احتمال واکنش میلارد می‌توان نسبت داد (۳۳). Wu و همکاران (۲۰۱۸) گزارش نمودند، با بررسی فرایند اکستروژن بر سبوس خام گندم، میزان روشنی (L*) نمونه بعد از اکستروژن کاهش یافت (۴۲). Kaur و همکاران (۲۰۱۵) طی پژوهشی تأثیر اکستروژن بر میزان روشنی سبوس گندم در دما و رطوبت‌های مختلف را گزارش نمودند، کم ترین کاهش در میزان روشنی نمونه‌ها در شرایط

اکستروژن سبب کاهش رطوبت، pH و روشی (L*، و سبب افزایش میزان خاکستر، فیبر خام و میزان قرمزی(a*))، در هر سه نمونه سبوس خام، تخمیر شده و هیدروترمال در سطح معنی دار گردید. در حالیکه میزان خاکستر در طی فرایند هیدروترمال و تخمیر، کاهش یافت. همچنین پارامتر (b*)، در سبوس گندم هیدروترمال و تخمیری، پس از اکستروژن افزایش یافت و در سبوس خام پس از فرایند اکستروژن کاهش یافت. همچنین کاهش کمتری در میزان روشی نمونه های تخمیر شده، مشاهده شد. مزیت روش فراوری اکستروژن بر روی سبوس گندم نسبت به روش های دیگر این است، که بخش عمده ای از مواد معدنی در روش هیدروترمال و تخمیر بر اثر شستشو حذف می شود در صورتی که با فراوری اکستروژن، این عیب برطرف می گردد و با کاهش بیشتر اسید فیتیک، میزان مواد معدنی آزاد هم بیشتر می شود. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که سبوس گندم تخمیری و هیدروترمال اکستروژن شده، با داشتن مقدار کمتر اسید فیتیک و دسترسی بیشتر به مواد معدنی و ماندگاری بیشتر، دارای قابلیت زیادی جهت استفاده در ترکیب مواد غذایی می باشد.

سپاسگزاری

از شرکت محترم رامشین ترد بابت در اختیار قرار دادن ماشین آلات و کمک های فکری و معنوی تشکر و قدردانی می گردد.

زیست دسترسی آهن، مس، روی و منیزیم در غلات و دانه حبوبات کم است (۴۶). تحت فشار اکستروژن، زنجیره های پروتئینی باز می شوند و به حالت اسفنجی و رشته ای در می آیند (۴۷). با آزاد شدن این اتصالات، گروههای فسفات و بدنبال آن مواد معدنی هم آزاد می شوند. احتمالاً کاهش میزان اسید فیتیک بعد از اکستروژن نمونه ها، به این دلیل می باشد.

Jayarajah و همکاران (۱۹۹۷) در پژوهشی کاهش حدود ۴۰٪ فیتات در طی تیمار هیدروترمال را گزارش نمودند، که این نتیجه تجزیه فیتات در طی فرایند هیدروترمال می باشد (۲۶). Fredlund و همکاران (۱۹۹۷) در پژوهشی در طی فرایند هیدروترمال در دمای ۵۵ درجه سانتی گراد و مدت ۲۴ ساعت، کاهش ۴۶ درصدی، اینوزیتول هگزا فسفات را گزارش نمودند (۲۴). دلیل کاهش اسید فیتیک توسط مخمر به کاهش pH توسط اسیدهای آلی و دی اکسید کربن مربوط است که سبب افزایش حلایت اسید فیتیک و فعال شدن آنزیم فیتاز می گردد (۴۸). بیشترین میزان فعالیت فیتاز مخمر در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد بوده و حين تخمیر pH برای فعالیت آنزیم فیتاز سبوس گندم فراهم شده است (۴۸).

نتیجه گیری

نتایج این بررسی با هدف کاهش میزان اسید فیتیک نشان داد، فرایند اکستروژن سبب کاهش میزان اسید فیتیک در سبوس خام، سبوس تخمیری و سبوس هیدروترمال، در سطح معنی دار گردید. بیشترین کاهش میزان اسید فیتیک، مربوط به فرایند اکستروژن سبوس تخمیر شده بود. همچنین، فرایند

• References

- Bruce HM, Callow RK. Cereals and rickets. The role of inositolhexaphosphoric acid. *Biochemical Journal*. 1934;28(2):517.
- O'Dell BL, De Boland AR, Koirtyohann SR. Distribution of phytate and nutritionally important elements among the morphological components of cereal grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1972 May;20(3):718-23.
- Mosharrraf L, Kadivar M, Shahedi M. Effect of hydrothermated bran on physicochemical, rheological and microstructural characteristics of Sangak bread. *Journal of cereal science*. 2009 May 1;49(3):398-404.
- Sandberg, A.-S., Scheers, N. Phytic acid: properties, uses, and determination .In: Encyclopedia of Food and Health. Academic Press, Oxford, pp 2016. 365–368.
- García-Estepa RM, Guerra-Hernández E, García-Villanova B. Phytic acid content in milled cereal products and breads. *Food research international*. 1999 Apr 1;32(3):217-21.
- Febles CI, Arias A, Hardisson A, Rodríguez-Alvarez C, Sierra A. Phytic acid level in wheat flours. *Journal of Cereal Science*. 2002 Jul 1;36(1):19-23.
- Reddy NR, Sathe SK, editors. *Food phytates*. CRC Press; 2001 Dec 20.
- Kumar V, Sinha AK, Makkar HP, Becker K. Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: A review. *Food chemistry*. 2010 Jun 15;120(4):945-59.
- Phillippy BQ. Transport of calcium across Caco-2 cells in the presence of inositol hexakisphosphate. *Nutrition Research*. 2006 Mar 1;26(3):146-9.
- Bohn T, Davidsson L, Walczyk T, Hurrell RF. Phytic acid added to white-wheat bread inhibits fractional apparent magnesium absorption in humans. *The American journal of clinical nutrition*. 2004 Mar 1;79(3):418-23.
- Andersson AA, Andersson R, Jonsäll A, Andersson J, Fredriksson H. Effect of different extrusion parameters

- on dietary fiber in wheat bran and rye bran. *Journal of food science*. 2017 Jun;82(6):1344-50.
12. Hinton JJ. The distribution of ash in the wheat kernel. *Cereal Chemistry*. 1959;36:19-31.
 13. Reddy NR. Occurrence, distribution, content, and dietary intake of phytate. *Food phytates*. 2002;25-51.
 14. Sakamoto K, Vučenik I, Shamsuddin AM. [3H] Phytic acid (inositol hexaphosphate) is absorbed and distributed to various tissues in rats. *The Journal of nutrition*. 1993 Apr 1;123(4):713-20.
 15. Greiner R, Konietzny U, Jany KD. Phytate-an undesirable constituent of plant-based foods?. *Journal für Ernährungsmedizin*. 2006 Dec 15;8(3):18-28.
 16. Schlemmer U, Frølich W, Prieto RM, Grases F. Phytate in foods and significance for humans: food sources, intake, processing, bioavailability, protective role and analysis. *Molecular nutrition & food research*. 2009 Sep;53(S2):S330-75.
 17. Liu Z, Wang H, Wang XE, Xu H, Gao D, Zhang G, Chen P, Liu D. Effect of wheat pearlling on flour phytase activity, phytic acid, iron, and zinc content. *LWT-Food Science and Technology*. 2008 Apr 1;41(3):521-7.
 18. Thompson LU. Potential health benefits and problems associated with antinutrients in foods. *Food Research International*. 1993 Jan 1;26(2):131-49.
 19. Leenhardt F, Levrat-Verny MA, Chanliaud E, Rémesy C. Moderate decrease of pH by sourdough fermentation is sufficient to reduce phytate content of whole wheat flour through endogenous phytase activity. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2005 Jan 12;53(1):98-102.
 20. Skoglund E, Lönnadal B, Sandberg AS. Inositol phosphates influence iron uptake in Caco-2 cells. *Journal of agricultural and food chemistry*. 1999 Mar 15;47(3):1109-13.
 21. Sandberg AS, Brune M, Carlsson NG, Hallberg L, Skoglund E, Rossander-Hulthén L. Inositol phosphates with different numbers of phosphate groups influence iron absorption in humans. *The American journal of clinical nutrition*. 1999 Aug 1;70(2):240-6.
 22. Nikmaram N, Leong SY, Koubaa M, Zhu Z, Barba FJ, Greiner R, Oey I, Roohinejad S. Effect of extrusion on the anti-nutritional factors of food products: An overview. *Food control*. 2017 Sep 1;79:62-73.
 23. Salmenkallio-Marttila M, Katina K, Autio K. Effects of bran fermentation on quality and microstructure of high-fiber wheat bread. *Cereal Chemistry*. 2001 Jul;78(4):429-35.
 24. Fredlund K, Asp NG, Larsson M, Marklinder I, Sandberg AS. Phytate reduction in whole grains of wheat, rye, barley and oats after hydrothermal treatment. *Journal of Cereal Science*. 1997 Jan 1;25(1):83-91.
 25. Mellanby E. Some points in the chemistry and biochemistry of phytic acid and phytase. A Story of Nutritional Research. 1950:248-82.
 26. Jayarajah CN, Tang HR, Robertson JA, Selvendran RR. Dephytinisation of wheat bran and the consequences for fibre matrix non-starch polysaccharides. *Food chemistry*. 1997 Jan 1;58(1-2):5-12..
 27. AACC. Approved methods of the American association of cereal chemists. 10th ed. St. Paul, Minnesota: American Association of Cereal Chemists 2000.
 28. HUNTERLAB - Hunter Associates Laboratory. The basics of color perception and measurement. 2001. Disponível em: <http://www.hunterlab.com/pdf/color.pdf>. Acesso em: 16 nov. 2013.
 29. Dost K, Tokul O. Determination of phytic acid in wheat and wheat products by reverse phase high performance liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta*. 2006 Feb 3;558(1-2):22-7.
 30. Sharma S, Kaur S, Dar BN, Singh B. Storage stability and quality assessment of processed cereal brans. *Journal of food science and technology*. 2014 Mar;51(3):583-8.
 31. Wang, W-M., C. F. Klopfenstein, and J. G. Ponte. "Effects of twin-screw extrusion on the physical properties of dietary fiber and other components of whole wheat and wheat bran and on the baking quality of the wheat bran." *Cereal chemistry* 70.6 (1993): 707-711.
 32. Wang N, Hatcher DW, Gawalko EJ. Effect of variety and processing on nutrients and certain anti-nutrients in field peas (*Pisum sativum*). *Food Chemistry*. 2008 Nov 1;111(1):132-8.
 33. Sharma HR, Chauhan GS, Agrawal K. Physico-chemical characteristics of rice bran processed by dry heating and extrusion cooking. *International Journal of Food Properties*. 2004 Dec 31;7(3):603-14.
 34. Kaur S, Sharma S, Singh B, Dar BN. Effect of extrusion variables (temperature, moisture) on the antinutrient components of cereal brans. *Journal of food science and technology*. 2015 Mar;52(3):1670-6.
 35. Aivaz M, Mosharraf L. Influence of different treatments and particle size of wheat bran on its mineral and physicochemical characteristics. *International Journal of Agricultural Sciences*. 2013;3:608-19.
 36. Majzoobi M, Pashangeh S, Farahnaky A, Eskandari MH, Jamalian J. Effect of particle size reduction, hydrothermal and fermentation treatments on phytic acid content and some physicochemical properties of wheat bran. *Journal of food science and technology*. 2014 Oct;51(10):2755-61.
 37. Heller SN, Hackler LR. Changes in the crude fiber content of the American diet. *The American journal of clinical nutrition*. 1978 Sep 1;31(9):1510-4.
 38. Sandberg AS, Andersson H, Kivistö B, Sandström B. Extrusion cooking of a high-fibre cereal product: 1. Effects on digestibility and absorption of protein, fat, starch, dietary fibre and phytate in the small intestine. *British journal of nutrition*. 1986 Mar;55(2):245-54.
 39. Rathod RP, Annapuram US. Effect of extrusion process on antinutritional factors and protein and starch digestibility of lentil splits. *LWT-Food Science and Technology*. 2016 Mar 1;66:114-23.
 40. Tabekhia MM, El-Kady SA, Ammar KA. Some physical treatments on wheat bran for producing dietary fiber. *Elelmiszervizsgalati Kozlemenek* (Hungary). 1981.

41. Hefnawy TH. Effect of processing methods on nutritional composition and anti-nutritional factors in lentils (*Lens culinaris*). *Annals of Agricultural Sciences*. 2011 Dec 1;56(2):57-61.
42. Wu T, Li Z, Liu R, Sui W, Zhang M. Effect of extrusion, steam explosion and enzymatic hydrolysis on functional properties of wheat bran. *Food Science and Technology Research*. 2018;24(4):591-8.
43. Sikorski ZE, editor. Chemical and functional properties of food components. CRC press; 2006 Oct 25.
44. Levic J, Đuragić O, Sredanović S. 2nd Workshop Feed-To-Food FP7 REGPOT-3. Extrusion technology in feed and food processing, Thematic Proceedings. Novi Sad, Serbia, 19-21 October, 2010. Institute for Food Technology.
45. Morales P, Berrios JD, Varela A, Burbano C, Cuadrado C, Muzquiz M, Pedrosa MM. Novel fiber-rich lentil flours as snack-type functional foods: An extrusion cooking effect on bioactive compounds. *Food & function*. 2015;6(9):3135-43.
46. Cheftel JC. Nutritional effects of extrusion-cooking. *Food chemistry*. 1986 Jan 1;20(4):263-83.
47. H. Fatemi, Food Chemistry, Enteshar Sahami Co., Tehran, 2010. [in Persian]
48. Sandberg AS. In vitro and in vivo degradation of phytate. *Food phytates*. 2002:139-55.

Effects of Extrusion on Phytic Acid Reduction of Hydrothermal and Fermented Wheat Brans

Khalajian S¹, Ghiassi Tarzi B^{*2}

1- MSc Student of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran

2- *Corresponding author: Associate Prof, Dept. of Food Science and Technology, Islamic Azad University Science and Research Branch, Tehran, Iran. Email: b-ghiasi@srbiau.ac.ir

Received 5 Mar, 2020

Accepted 25 Jun, 2021

Background and Objectives: Wheat bran is a rich source of fibers, minerals and vitamins, which can be used as a valuable byproduct in food industries. However, despite the high nutritional value of wheat bran, presence of phytic acid is a concern because this chemical prevents the bioavailability of minerals.

Materials & Methods: Based on various studies with the aim of phytic acid reduction, effects of extrusion post process on reducing the phytic acid of pretreated wheat bran via hydrothermal and fermental methods were investigated. To prepare extruded samples, rotating, intermeshing twin-screw extruder with 20 kg/h feeder speed, 300 rpm screw speed, 120 °C temperature and 20% moisture was used.

Results: Results showed that the extrusion process decreased phytic acid in raw, fermented and hydrothermal brans at significant levels ($p < 0.05$). The highest decreases in phytic acid content was observed for the extrusions of fermented (84.84%), hydrothermal (78.3%) and raw (46%) brans. Extrusion process decreased moisture, pH and brightness (L*) and significantly increased ash, crude fiber and redness (a*) of all raw, fermented and hydrothermal bran samples ($p < 0.05$).

Conclusion: Results showed that fermented and hydrothermal wheat brans with extrusion post processing might be used in food formulations as rich sources of dietary fibers with less phytic acid, more bioavailability of minerals and longer shelf lives.

Keywords: Wheat bran, Processed bran, Extrusion, Phytic Acid, Bioavailability